

论著

## 荧光定量聚合酶链反应检测早期梅毒患者梅毒螺旋体

陈萍<sup>1</sup>, 李钟洙<sup>2</sup>

(1. 厦门大学医学院附属厦门市中山医院皮肤科, 福建 厦门 361004; 2. 福建医科大学附属厦门市第一医院皮肤科, 福建 厦门 361001)

[关键词] 梅毒, 早期; 聚合酶链反应, 荧光定量

[中图分类号] R759.11

[文献标识码] B

[文章编号] 1000-4963(2005)06-0376-02

笔者应用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测 3 例早期梅毒患者梅毒螺旋体及其血液中梅毒螺旋体特异基因片段, 现报告如下。

## 1 资料和方法

## 1.1 临床资料

例 1. 女, 51 岁。因 1 个月前双手掌、外阴、大腿根部、头皮、舌体陆续出现不同形状的皮损, 于 2004 年 2 月 2 日就诊。其丈夫患二期梅毒, 拒绝诊治。皮肤科检查: 双手掌见黄豆大铜红色

斑, 表面呈领圈状脱屑(图 1A), 外阴散在淡红色绿豆至豌豆大结节样损害, 大腿根部散在黄豆大暗红色斑, 表面脱屑(图 1B), 舌体腹侧有条形或类圆形浅溃疡(图 1C), 头皮散在红色丘疹, 表面脱屑或渗出, 形成结痂(图 1D)。血清学检查: 快速血清反应素试验(RPR)滴度为 1:64, 梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)滴度为 1:2 560。诊断: 二期梅毒。

例 2. 男, 30 岁。2 个月前阴茎起绿豆大无痛性溃疡, 渐增多, 双侧腹股沟淋巴结增大, 于 2004 年 3 月 2 日就诊。发病前有非婚性生活史。皮肤科检查: 环绕阴茎有 9 个绿豆至豌豆大隆起



图 1 早期梅毒患者(例 1)手部、外阴部、舌部、头皮部皮损

收稿日期: 2004-07-28; 修回日期: 2004-11-01



图 2 早期梅毒患者阴茎(例 2)、腹部(例 3)皮损  
A:阴茎 9 个绿豆至豌豆大的溃疡; B:躯干部散在米粒至小指甲大红斑、斑丘疹

的溃疡(图 2A),质硬如软骨,双侧腹股沟淋巴结增大,无触痛。血清学检查:RPR 滴度 1:2,TPPA 滴度 1:1 280。诊断:硬下疳。

例 3. 男,30 岁。5 d 前躯干部起红斑、丘疹,无任何自觉症状,于 2004 年 4 月 6 日就诊。3 个月前龟头曾破溃过,未经治疗自愈。发病前有非婚性生活史。皮肤科检查:躯干部散在米粒至小指甲大红斑、斑丘疹(图 2B)。血清学检查:RPR 滴度 1:32,TPPA 滴度 1:5 120。诊断:二期梅毒。

## 1.2 方法

1.2.1 取材 活检取头皮、舌体和龟头(龟头选择最大的和最小的溃疡)皮损,局部用无菌生理盐水清洗干净后挤出组织液;外阴、大腿根部、手掌及腹部皮损(腹部选择两处皮损)的取材系在局麻后,用手术刀轻刮表皮(尽量避免出血)后挤出组织液,用无菌拭子沾取组织液置 1 mL 无菌生理盐水试管中待检。抽取患者全血 1 mL 置含 EDTA 抗凝剂的无菌试管中待检。

1.2.2 FQ-PCR 检测方法 梅毒螺旋体(TP)-PCR 荧光检测试剂盒和 AmplyGenelight9800 荧光 PCR 扩增仪由厦门安普利生物工程有限公司提供。拟扩增特异 DNA 片段为梅毒螺旋体脂蛋白基因(TPP17)。操作方法依照试剂盒和仪器说明书进行。检测结果通过计算机进行分析,直接将所扩增的 DNA 拷贝数显示于计算机屏幕上(正常定量值  $< 1.5 \times 10^1$ )。

1.2.3 治疗方法 3 例患者就诊前均未治疗过,诊断明确后采用苄星青霉素 240 万 U 肌肉注射,每周 1 次,共 3 周。

## 2 结果

例 1 患者手掌部皮损定量值为  $9.80 \times 10^1$ , 外阴部皮损为  $6.92 \times 10^3$ , 大腿根部皮损为  $3.12 \times 10^2$ , 舌体部为  $1.49 \times 10^5$ , 头皮部为  $1.49 \times 10^2$ ; 例 2 龟头部小的溃疡定量值为  $3.70 \times 10^5$ , 大的溃疡为  $2.20 \times 10^5$ ; 例 3 腹部两处皮损定量值分别为  $1.73 \times 10^3$  和  $1.56 \times 10^3$ 。例 2 全血检测定量值为  $1.75 \times 10^2$ , 余 2 例患者全血检测定量值在正常范围。

## 3 讨论

FQ-PCR 是在常规 PCR 基础上加入荧光测试探针进行定量分析,其扩增与定量是在封闭条件下全自动操作,因而与常规 PCR 法相比有更高的灵敏度和特异性<sup>[1]</sup>。笔者最初使用该方

法检测例 1 不同形态的皮损是为了弄清它们是否均为梅毒疹,检测结果与例 2、例 3 一样,均为阳性。定量值结果说明在外阴、口腔黏膜的梅毒螺旋体含量较高,而手掌、头皮定量值相对较低。段逸群等<sup>[2]</sup>报告用常规 PCR 法检测 3 例梅毒性斑丘疹均为阴性,笔者用 FQ-PCR 法检测例 3 腹部两处斑丘疹,结果均为阳性。由于梅毒暗视野检查等传统方法对一些二期梅毒疹梅毒螺旋体检出率较低,曾有学者认为部分梅毒疹是机体免疫反应的结果。最新研究表明,梅毒疹形成的可能原因首先是梅毒螺旋体侵入局部皮肤所致<sup>[3]</sup>,本文检测结果符合此观点。对 3 例患者全血进行检测,结果仅 1 例阳性。陈家坚用相同方法检测梅毒患者血液中特异基因片段,结果阳性率较低<sup>[4]</sup>,其可能的原因是梅毒螺旋体在循环血液中分布不均或生存密度较低,以致所抽取的血样中不含病原体。

笔者仅观察 3 例资料完整的梅毒患者,但在所检测的 7 个不同形态的梅毒疹中均检测出梅毒螺旋体特异基因片段。本试验未做阴性对照,而以往在检测生殖器部位疑有梅毒感染的非梅毒患者皮损中尚未发现阳性结果,初步显示 FQ-PCR 技术检测的可靠性,它适用于有皮损的梅毒患者。由于观察例数有限,该方法无法与常规梅毒实验室检查手段如 RPR 和 TPPA 检测方法比较,也不可能替代这两种检查方法,但是对于体内尚未产生抗体的早期梅毒(硬下疳)患者,FQ-PCR 检测对早期诊断显然有一定的优势。该方法对于实验室确认形态各异的二期梅毒疹也有价值。

## 参考文献

- [1] Spurdle AB, Purdie DM, Webb PM, *et al.* The microsomal epoxide hydrolase Tyr113His polymorphism: association with risk of ovarian cancer[J]. Mol Carcinog, 2001, 30(1): 71-78.
- [2] 段逸群, 曾志良, 陈春梅, 等. 聚合酶链反应及镀银染色检测梅毒螺旋体 52 例报告[J]. 中国皮肤性病杂志, 1998, 12(1): 32-33.
- [3] Li W, Zhang J. Detection of treponema pallidum DNA in cutaneous lesions of secondary syphilis and characterization of the inflammatory infiltrate[J]. Beijing Da Xue Xue Bao, 2003, 35(5): 485-487.
- [4] 陈家坚. 三种不同方法对各期梅毒患者血清检测的结果分析[J]. 临床皮肤科杂志, 2003, 32(2): 83.